

Tierexperimentelle Studien zur Isosensibilisierung von Tumorproteinen

(Versuche an ein und demselben Tierstamm)

von
Ekkehard Lehr
aus Nürnberg

1968



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548410_0074

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses
Erlangen-Nürnberg

Vorstand: Professor Dr. F. Scheiffarth

Tierexperimentelle Studien zur Iso=
sensibilisierung von Tumorproteinen
(Versuche an ein und demselben Tierstamm).

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
der
FRIEDRICH-ALEXANDER-UNIVERSITÄT
zu
ERLANGEN-NÜRNBERG

vorgelegt von
Ekkehard Lehr
aus Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Professor Dr. med. E. Wetterer

Referent: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 16. und 19. Februar 1968

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Untersuchungsgut und Versuchsanordnung	2 - 10
Ergebnisse	11 - 13
Diskussion	14 - 15
Zusammenfassung	16
Literaturverzeichnis	17 - 18

E i n l e i t u n g :

Angeregt durch die von NADLER und MOORE (11) mitgeteilten Therapieerfolge durch Leukapherese malignen Zellmaterials beim Menschen, wonach es in Einzelfällen gelang, generalisiert wachsende bzw. metastasierende Sarkome, Melanosarkome und Carcinome nicht nur zum Stillstand, sondern zu weitgehender Rückbildung zu bringen, wurde versucht, im Tierexperiment ein Modell zu erhalten, das die aus der Humanpathologie gebotenen Phänomene näher zu studieren ermöglicht. Insbesondere sollte eine derartige Versuchsanordnung es gestatten, neben den histopathologischen bzw. morphologischen Studien auch etwa ablaufende immunologische Vorgänge verfolgen und objektivieren zu können.

In der vorliegenden ersten Mitteilung zu dieser Frage wurde an einer Gruppe von Ratten des gleichen Stammes eine Versuchsserie mit Tumoraustausch transplantierter YOSHIDA-Sarkome vorgenommen. In einer zweiten Mitteilung wird über Ergebnisse desselben Versuches an Ratten verschiedener Stämme berichtet werden.

I. Untersuchungsgut und Versuchsanordnung:

Es wurden insgesamt 40 Ratten des Stammes Wistar-Hannover mit einem durchschnittlichen Gewicht von 200 g in Versuch genommen. Für die Gewinnung von Tumorextrakt bzw. die Transplantationsversuche wurde YOSHIDA-Sarkom ^{x)} gewählt.

Die Tiere wurden in drei Gruppen aufgeteilt, wovon die eine (Gruppe A) 10, die andere (Gruppe B) 20 Ratten und die dritte (Gruppe C) 10 Tiere umfaßte.

Gruppe A war für die aktiven Sensibilisierungsversuche mit dem Homogenat des transplantablen Tumors bei gleichzeitiger Transplantation desselben bestimmt, Gruppe B für die wechselseitigen Tumortransplantationen; Gruppe C diente als Kontrolle, wobei diese Ratten lediglich Tumor transplantiert bekamen ohne zusätzliche Behandlung(s. u. a. Tab. 1).

Prinzipiell wurde jeder Gruppe vor Versuchsbeginn Blut für die Ausgangswerte entnommen. Kontrolluntersuchungen des Serums der Versuchstiere erfolgten in Gruppe A und C lediglich am Ende des Versuches bzw. zu dem Zeitpunkt, zu dem einzelne Tiere zugrunde zu gehen drohten. In der Gruppe B wurden aber auch zwischenzeitlich Kontrollen vorgenommen.

Die Seren der Tiere wurden prinzipiell papierelektrophoretisch sowie zur Untersuchung auf unspezifische oder tumorspezifische agglutinierende und präzipitierende Antikörper gegen das Eiweißhomogenat des transplantablen Tumors analysiert.

x) Tumortragende Tiere wurden uns von Herrn Dr. GERICKE, Farbwerke HOECHST, freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Versuchsgruppen		Anzahl d. Tiere	Anzahl der Tumortrans- plantate	Weitere Behandlung	Blutab- nahmen
Sensibili- sierungs- gruppe	A	10	1 Tu	Sensibilisie- rungsversuch mit Tumorhomoge- nat	Ausg. Endw.
Hauptver- suchsgruppe	B	20	2 Tu	Austausch= transplan- tation unter je 2 Tieren	Ausg. Kontr. Endw.
Kontrollen	C	10	2 Tu	keine	Ausg. Endw.

Tabelle 1

Tab. 1 gibt eine Übersicht über die Versuchsanordnung.

II. Methodisches:

Im nachfolgenden wird zunächst die Methode abgehandelt, die für sämtliche Versuchsgruppen in gleicher Weise eingesetzt wurde. Anschließend werden die Zusatzmethoden aufgeführt, die speziell für die eine oder andere Tiergruppe in Frage kamen.

1). Gewinnung des Serums:

Vor Versuchsbeginn sowie zum Zeitpunkt der verschiedenen Kontrollen wurde den Tieren in üblicher Weise aus der Schwanzvene Blut entnommen. Verwendet wurde hierzu ein Spitzgläschen mit dem Durchmesser von 0,5 cm. Das Blut wurde wenigstens 4 Stunden bei Zimmertemperatur belassen, wobei sich bereits Serum absetzte. Danach wurde bei 2800 Upm zentrifugiert und das überstehende Serum sorgfältig abpipettiert. Verwendet wurden nur lipämie- und hämolysefreie Tierseren.

2). Papierelektrophorese:

Zur Analyse der Serumeiweißkörper wurde die Papierelektrophorese nach den Angaben von GRASSMANN und HANNIG (8) gewählt.

Auf einem Filtrierpapierstreifen wurde mit einem Stempel oder einer Spezialpipette jeweils 0,009 ml (zur Proteinfärbung) bzw. 0,03 ml (bei den übrigen Färbungen) des zu untersuchenden Serums aufgetragen. Der Streifen wurde dann gleichmäßig mit Pufferlösung angefeuchtet und auf die Brücke einer Elektrophoresekammer gespannt, so daß beide Enden in die Pufferbehälter der Kammer tauchen.

Verwendet wurde dabei ein Medinalpuffer mit einem pH von 8,6 und einer Ionenstärke von $\mu = 0,85$. Bei einer Gleichstromspannung von etwa 350 Volt wurde das Serum 6 Stunden lang getrennt. Anschließend wurden die Streifen durch Trocknen bei 100 °C fixiert und dann gefärbt.

Proteinfärbung:

Färbelösung: eine gesättigte Lösung von Amidoschwarz 10 B in einem Gemisch von Methanol und Eisessig im Verhältnis 9 : 1.

Entfärber: eine Lösung Methanol und Eisessig im Verhältnis 9 : 1.

Arbeitsgang: die Streifen werden 20 Minuten lang gefärbt und anschließend in mehreren Bädern entfärbt, bis die Streifen selbst völlig farblos sind. Sodann werden sie mit einem Gemisch von Paraffinöl und α -Bromnaphthalein transparent gemacht. Die gefärbten Streifen wurden mittels eines Extinktionsschreibers ausgewertet. Im Prinzip werden die Streifen dabei über einen Spalt, der von einem Lichtbündel durchstrahlt wird, vorbeigeführt und die Schwächung des Lichtes von einer Photozelle registriert. Das Eiweißspektrum wird dann automatisch als Funktion des Grades der Lichtabschwächung graphisch aufgezeichnet. Nach Einzeichnung der GAUSS'schen Kurven wurden diese mit einem Planimeter ausgewertet und anschließend die relativen Prozente berechnet.

3). Statistische Auswertung (10)

Die papieroelektrophoretisch gewonnenen Planimeterwerte, umgerechnet in relative Prozente, wurden nach den klassischen Angaben der Statistik ausgewertet, wobei folgende Formeln zur Anwendung kamen:

a). Berechnung des Mittelwertes:

$$M = \frac{\sum x}{n}$$
, wobei M den Mittelwert, $\sum x$ die Summe der Einzelwerte und n die Anzahl der untersuchten Tiere bedeuten.

b). Berechnung der Streubreite:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum \Delta x^2}{n-1}}, \text{ wobei } \Delta x \text{ die Differenz zwischen dem errechneten Mittelwert und dem Einzelwert darstellt.}$$

c). Berechnung der Differenz einzelner Mittelwerte:

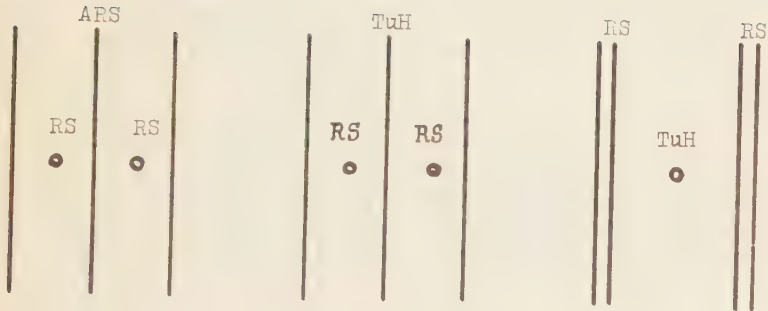
$$\sigma_{\text{diff}} = \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{M_2} + \frac{\sigma_2^2}{M_1}}$$

d). Berechnung der Signifikanz (t-Verteilung):

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\text{diff}}, \text{ wobei } M_1 - M_2 \text{ prinzipiell die Differenz zwischen den gegebenen Mittelwerten ausdrückt, ungeachtet dessen, an welcher Stelle die größere Zahl steht; es wird also in jedem Fall die kleinere von der größeren subtrahiert.}$$

4). Immunoelktrophorese:

Die Immunoelktrophorese wurde im wesentlichen nach den klassischen Angaben von GRABAR und WILLIAMS (5a,b,c, 6a,b, 7a,b) bzw. mit der Mikromethode von SCHEIDEGGER (13) vorgenommen. Die Versuchsanordnung der verschiedenen Analysensätze ist aus Tabelle 1 ersichtlich.



RS = Rattenserum

ARS = Anti-Rattenserum

TuH = Tumorphomogenat

Tab. 2 :

In vorliegendem Schema wird veranschaulicht, daß in einem Analysensatz das Rattenserum zur elektrophoretischen Differenzierung aufgetragen wurde und am Ende der Trennung gegen ein spezifisches Anti - Rattenserum ^x auspräzipitiert wurde, daß in der zweiten Reihe das Rattenserum gegen Tumorphomogenat und daß in der dritten Analysereihe das Tumorphomogenat aufgetrennt und gegen die jeweiligen Rattenserum getestet wurde.

x) Anti - Rattenserum vom Kaninchen Op.-Nr. 641 Q ,
BEHRINGWERKE, Marburg / Lahn

Im Prinzip handelt es sich bei der Immunoelktrophorese um zwei getrennt ablaufende Vorgänge, die einander jedoch in einem fortlaufenden Analysensatz ergänzen: die Elektrophorese eines Proteingemisches oder Proteinsystems in einem Agarigel und die nach Abschluß der Elektrophorese erfolgte Immunodiffusion der getrennten Proteinkomponenten gegen ein von einem seitlich angebrachten Längskanal linear einströmendes polyvalentes oder auch monovalentes spezifisches Antiserum. An den Berührungsstellen von Antikörper und Antigen bilden sich unlösliche Präzipitate in Gestalt von unterschiedlich stark gekrümmten Bögen. Methodische Einzelheiten finden sich im einschlägigen Schrifttum.

5). Gewinnung des Tumorphomogenats:

Für die Nachweisreaktionen auf spezifische Tumorentikörper gegen YOSHIDA - Sarkom wurde das maligne Gewebe des transplantablen Tumors in folgender Weise aufbereitet:

Nekrosefreies Tumorgewebe wurde sorgfältig von Bindegewebe gesäubert und grob zerkleinert, im Verhältnis 1 : 4 mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt und im Ultra - Turrax - Zerstäuber (15000 Upm, Herstellerfirma Janke und Scholtan) homogenisiert und bei 15 000 Upm 30 Minuten bei +4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde sorgfältig abpipettiert und auf einen Eiweißgehalt von 0,5 % eingestellt. Das gleiche Homogenat wurde in der Gruppe A zur Sensibilisierung verwendet.

Sensibilisierungsplan:

Die Gruppe A wurde mit dem oben beschriebenen Tumorphomogenat in folgender Weise behandelt:

Jedes Tier erhielt täglich eine intraperitoneale Injektion von 0,5 ml des Tumorantigens appliziert. Am ersten Tag der Sensibilisierungsserie wurde gleichzeitig jeder Ratte eine Zellsuspension (s.u.) des YOSHIDA - Sarkoms transplantiert. Aufbereitung der Tumorzellen für die Transplantation siehe obigen Text.

6). Passive Hämagglutination nach BOYDEN:

Zum Nachweis agglutinierender Antikörper gegen Tumorextrakt wurde eine gering modifizierte Methode der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN (1) angewandt.

Im Prinzip handelt es sich hierbei um die Bindung antigenen Materials an die Oberfläche tannierter Erythrozyten der Blutgruppe O, rh-negativ und deren Agglutination bei Kontakt mit spezifischen Antikörpern aus dem Serum sensibilisierter Tiere. Durch die Gegenwart der Erythrozyten wird die sonst okkult ablaufende Agglutinationsreaktion sichtbar gemacht. Das Anlegen einer geometrischen Verdünnungsreihe des Antiserums gestattet das Ablesen der Antikörperkonzentration in Titerstufen.

Methodische Einzelheiten zu dieser Technik sind dem einschlägigen Schrifttum zu entnehmen (1).

Angewandt wurde die passive Hämagglutinationsreaktion in der Beobachtungsreihe tumortragender Ratten ohne weitere Behandlung und bei den Versuchsserien tumortragender Ratten, welche auf verschiedene Weise zuzätzlich behandelt wurden.

7). Nachweis präzipitierender Antikörper:

Hierzu wurde die zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY (12a,b) gewählt.

Das Prinzip der Methode beruht auf der zweidimensionalen Diffusion eines Antigens gegen einen spezifischen Antikörper (antikörperhaltiges Serum) unter Bildung unlöslicher Präzipitationslinien an den Berührungsstellen dieser beiden Systeme.

Vergleicht man verschiedene Präzipitationslinien miteinander, so gelten folgende Grundgesetze:

Verschmelzende Linien bedeuten Identität, Sporenbildung weisen auf teilweise Identität und auf die Existenz zusätzlicher, nicht determinanter Proteingruppen, Kreuzungsphänomene sagen aus, daß die gekreuzten Systeme keine Identität besitzen.

Methodische Einzelheiten zur zweidimensionalen Immunodiffusion im Agargel finden sich im einschlägigen Schrifttum (12a,b).

Angewandt wurde diese Technik in allen Untersuchungs- und Versuchsserien wie unter 6 .

8). Transplantationstechnik:

Von einem tumortragenden Tier wurde nach Tötung im Chloroformrausch das maligne Transplantat in toto entnommen und sorgfältig von peritumoralem und tumorfremdem Bindegewebe befreit. Nekrotisierte Tumoren wurden nicht verwendet. Die exstirpierten malignen Gewebe wurden kurzfristig unter fließendem Wasser gewässert, zerkleinert und sodann durch die Embryonenpresse getrieben. Das so gewonnene Zellsubstrat wurde im Verhältnis 1 : 4 mit physiologischer NaCl - Lösung verdünnt und unter Wahrung steriler Kautelen in die Nackenmuskulatur bzw. unter das Sarkolemm derselben injiziert. Im allgemeinen wurde 1,0 ml

pro Inoculationsstelle und Tier appliziert.

9). Zusatzmethoden für die Hauptversuchsgruppe, Gruppe B:

a). Tumorexstirpation (Operationstechnik)

Die Operation erfolgte in Äthernarkose. Nach Ausspannen der Versuchstiere auf eine Metallplatte (durch Schnurbefestigung an den vier Extremitäten) wurde im Bereich eines der beiden Tumoren das Fell rasiert und jodiert, danach ein Hautschnitt in Anpassung an die Ausdehnung des Tumors geführt und anschließend stumpf weiterpräpariert. Im allgemeinen ließen sich die Tumoren ohne weiteres aus dem Sarkom der Nackenmuskulatur lösen und nach Unterbinden vereinzelt nachweisbarer größerer Gefäße in toto exstirpieren. Es folgten Muskelnähte, sodann die Hautnaht.

Antibiotica, die anfangs lokal in das Operationsfeld bzw. i.m. post operationem appliziert wurden, erwiesen sich als nicht erforderlich, wie dies an einem späteren Operationsgut gezeigt werden konnte.

b). Ausgetauschter Transplantation inoculierter Malignome unter Paaren ein und derselben Rasse:

Die 20 Versuchstiere erhielten an zwei verschiedenen Stellen (je 0,5 ml) Tumorzellen inoculiert. Die Aufbereitung der Tumorzellsuspension wie die Übertragungstechnik entsprachen obigen Angaben. Einer der heranwachsenden Tumoren wurde exstirpiert und dessen Zellen einem anderen Tier der gleichen Zucht transplantiert. Umgekehrt wurde vom letzteren ebenfalls ein Tumor in toto operiert und dessen Zellen der ersten Ratte transplantiert. Es wurde somit jeweils ein Rattenpaar mit gegenseitig ausgetauschtem Tumorzellmaterial beobachtet. Die Tumorexstirpation (Operationstechnik) erfolgte nach obigen Angaben.

III. E r g e b n i s s e :

1). Beobachtungen an den Versuchstieren:

a). Versuchsgruppe A:

(Transplantierte Ratten mit gleichzeitiger fortlaufender aktiver Sensibilisierung).

Das Angehen der transplantierten Zellen wurde durch die Behandlung mit Tumorphomogenat nicht beeinträchtigt, ebensowenig das weitere Wachstum der Tumoren. Auch die Überlebenszeit der Tiere konnte im Vergleich zu den lediglich tumortragenden Ratten keineswegs nennenswert variiert werden; sie betrug hier zwischen 9 und 12 Tage nach der Transplantation.

b). Versuchsgruppe B:

(Austauschtransplantation zwischen Rattenpaaren der gleichen Zucht).

Von den 20 operierten Tieren überlebten sämtliche den Eingriff. Unmittelbar post operationem kam es zu einem verlangsamten Wachstum der verbliebenen Erst - Tumoren. Die Austauschtransplantate waren 4 bis 8 Tage nach Übertragung mit einer Ausnahme bei sämtlichen Ratten angegangen. Von diesem Zeitpunkt an kam es zwar zu einem nur langsameren Wachstum der neu-inoculierten Malignome, jedoch wuchsen die Erst - Transplantate von nun an so stark heran, daß schon nach weiteren 2 bis 5 Tagen die meisten der Versuchstiere ad exitum kamen. In einem einzigen Fall (nicht Paar) kam es zu einer Rückbildung sowohl des Erst - Transplantates als auch des zunächst angegangenen Zweit - Transplantates. Diese Ratte überlebte bis zu 4 Wochen.

c). Versuchsgruppe C (Trägartiere):

In der Gruppe der völlig unvorbehandelten Ratten wurde nach Übertragung der Tumorzellen nach durchschnittlich 5 Tagen ein Angehen der Transplantate, d.h. eine etwa linsen- bis erbsengroße Tumorentwicklung wahrgenommen. Das weitere Wachstum dieser malignen Geschwülste erfolgte von nun an zusehends. Nach 8 bis 9 Tagen kam es entweder zu zentraler Nekrose mit Ulzeration oder bereits zum Exitus des tumortragenden Tieres.

a). Gruppe A:

Die papierelektrophoretischen Befunde haben eine signifikante Hypalbuminämie erkennen lassen mit relativer, ebenfalls signifikanter Vermehrung der α_1 -, der α_2 -, der α_2 / β - und auch der β - Globulinfraktion, wohingegen die γ - Globuline keine nennenswerten Änderungen aufwiesen.

b). Haupt

Hier war folgendes Verhalten der Serumweißkörper festzustellen:

In den Serumproben nach Transplantation der beiden Erst - Tumoren (4 Tage post inoculationem) war ein signifikanter Albuminsturz mit relativer, starker Anreicherung von α_1 -, α_2 -, α_2 / β - und β - Globulinvermehrung mit praktisch unveränderter γ - Globulinkonzentration nachweisbar. Durchschnittlich 10 Tage nach Austauschtransplantation war die Serumweißkonstellation auf

n			Albu- mine	Globuline				
				α_1	α_2	α_2/β	β	γ
10	A	$\sigma \pm$	40,11	11,10	0,21	5,45	14,95	12,73
			4,55	1,12	1,10	1,47	1,10	1,19
	B	$\sigma \pm$	33,00	1,11	11,41	14,00	11,20	12,43
			1,1	1,18	1,51	2,11	2,32	3,06
	t		13,4	0,47	0,25	5,0	1,04	0,159

TABLE 10:

n			Albu- mine	Globuline				
				α_1	α_2	α_2/β	β	γ
0	A	$\sigma \pm$	40,21	11,43	1,13	4,64	16,04	11,70
			4,40	1,11	1,13	0,50	2,11	1,53
	B	$\sigma \pm$	33,07	16,49	10,45	6,93	21,98	10,52
			1,1	1,14	1,64	1,30	1,13	1,51
		$\sigma \pm$	10,10	10,04	11,10	8,41	10,10	18,20
			0,1	1,11	1,10	2,1	1,10	1,08
	13,1		1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1
	11,1		1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	0,1

TABLE 11:

n			Albu- mine	Globuline				
				α_1	α_2	α_2/β	β	γ
10	A	$\sigma \pm$	50,4	11,80	0,46	5,18	15,04	11,22
			3,17	1,41	1,11	1,19	2,54	0,91
	B	$\sigma \pm$	33,4	17,04	11,05	10,04	17,86	9,53
			1,19	3,58	1,44	2,49	2,38	1,91
	t		22,4	3,76	7,05	4,68	3,3	2,64

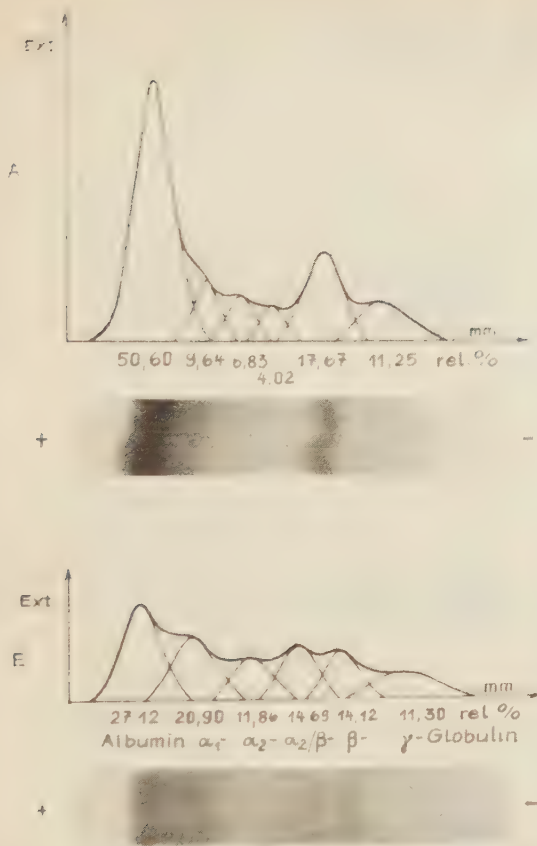


Abb. 1 :

zeigt die papierelektrophoretischen Befunde einer Ratte aus Gruppe A vor Versuchsbeginn (oben), sowie am Ende des Versuchs (unten).

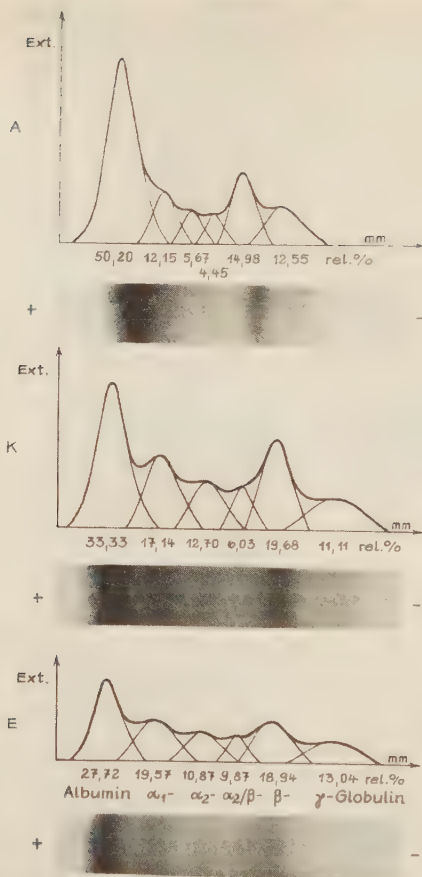


Abb. 2 :

zeigt die papierelektrophoretischen Ergebnisse einer Ratte aus Gruppe B vor Versuchsbeginn (oben), zum Zeitpunkt der ersten Kontrolle (Mitte), sowie am Ende des Versuchs (unten).

Man erkennt deutlich die zunehmende Dysproteinämie.

Grund der statistisch errechneten Relativprozente im Vergleich zur vorher erwähnten Kontrolle nahezu völlig gleichbleiben.

c). Gruppe C:

Papiererelektrophoretisch waren in etwa die gleichen Relationsverschiebungen offensichtlich, nur mit dem Unterschied, daß im γ - Globulinbereich in 30 % der Fälle eine Hypogammaglobulinämie auf=fiel.

3). Immunserologische Ergebnisse:

Unter Verwendung der Hämagglutination sowie der zweidimensionalen Immunodiffusion konnte lediglich im Agargel in den Ausgangswerten der Rattenserum gegen Tumorphomogenat in 7% der hier untersuchten unvorbehandelten Rattenserum nachgewiesen werden. Eigentümlicherweise zeigte sich dieses Phänomen weder in den weiteren Kontrollen noch in den Endwerten.

Agglutinierende Faktoren konnten ebenfalls in den Ausgangswerten bis zu Titern von maximal 1 : 16, und hier auch nur in einem Prozentsatz von 5 aller untersuchten Tiere, festgestellt werden. Auch hier war in den weiteren Kontrollen bzw. Endwerten in keiner der Versuchsreihen ein positives Ergebnis objektivierbar geworden.

GRUPPE A

Kontr.	Lfd.Nr.	Aggl.	Präz.
Ausgangswerte	1	Ø	Ø
	2	Ø	Ø
	3	Ø	Ø
	4	1:8	Ø
	5	Ø	Ø
	6	1:16	Ø
	7	Ø	Ø
	8	Ø	Ø
	9	Ø	Ø
	10	Ø	Ø
Endwerte	1	Ø	Ø
	2	Ø	Ø
	3	Ø	Ø
	4	Ø	Ø
	5	Ø	Ø
	6	Ø	Ø
	7	Ø	Ø
	8	Ø	Ø
	9	Ø	Ø
	10	Ø	Ø

Ausgangswerte				Kontrollwerte				Endwerte			
Kontr.	Lfd.Nr.	Aggl.	Präz.	Kontr.	Lfd.Nr.	Aggl.	Präz.	Kontr.	Lfd.Nr.	Aggl.	Präz.
	1	Ø	Ø		1	Ø	Ø		1	Ø	Ø
	2	Ø	Ø		2	Ø	Ø		2	Ø	Ø
	3	Ø	Ø		3	Ø	Ø		3	Ø	Ø
	4	Ø	Ø		4	Ø	Ø		4	Ø	Ø
	5	Ø	Ø		5	Ø	Ø		5	Ø	Ø
	6	Ø	Ø		6	Ø	Ø		6	Ø	Ø
	7	Ø	Ø		7	Ø	Ø		7	Ø	Ø
	8	Ø	Ø		8	Ø	Ø		8	Ø	Ø
	9	Ø	Ø		9	Ø	Ø		9	Ø	Ø
	10	Ø	Ø		10	Ø	Ø		10	Ø	Ø
	11	Ø	Ø		11	Ø	Ø		11	Ø	Ø
	12	Ø	Ø		12	Ø	Ø		12	Ø	Ø
	13	Ø	Ø		13	Ø	Ø		13	Ø	Ø
	14	Ø	Ø		14	Ø	Ø		14	Ø	Ø
	15	Ø	Ø		15	Ø	Ø		15	Ø	Ø
	16	Ø	Ø		16	Ø	Ø		16	Ø	Ø
	17	Ø	Ø		17	Ø	Ø		17	Ø	Ø
	18	Ø	Ø		18	Ø	Ø		18	Ø	Ø
	19	Ø	Ø		19	Ø	Ø		19	Ø	Ø
	20	Ø	Ø		20	Ø	Ø		20	Ø	Ø

GRUPPE C

Kontr.	Lfd.Nr.	Aggl.	rel.
Ausgangswerte	1	Ø	Ø
	2	Ø	Ø
	3	Ø	+
	4	Ø	Ø
	5	Ø	Ø
	6	Ø	Ø
	7	Ø	Ø
	8	Ø	Ø
	9	Ø	Ø
	10	Ø	Ø
Endwerte	1	Ø	Ø
	2	Ø	Ø
	3	Ø	Ø
	4	Ø	Ø
	5	Ø	Ø
	6	Ø	Ø
	7	Ø	Ø
	8	Ø	Ø
	9	Ø	Ø
	10	Ø	Ø

D i s k u s s i o n :

Die vorliegenden Ergebnisse haben gezeigt, daß unter der gegebenen Versuchsanordnung eine Antikörperbildung, d. h. ein Sensibilisierungseffekt, nicht möglich geworden ist. Man hätte eine Iso- bzw. Homosensibilisierungsfolge erwarten können, nachdem zwar keine speziesfremde, aber doch eine individualfremde Transplantation von Tumormaterial vorgenommen wurde. Sicher war der Austausch von Tumortransplantaten bei ein und demselben Tierstamm jedoch als Effekt i. S. einer Inzuchtverpflanzung aufzufassen. Tatsächlich findet man bei wenig differenzierten Tieren innerhalb gleicher Familien nur unwesentliche Individualunterschiede, immunologisch sind diese zumindest inert. Die Tatsache, daß die tumortragenden Tiere gegen Homotransplantate des gleichen Tumors keine immunologische Reaktivität gezeigt haben, beweist überdies die Toleranz der Versuchsratten gegenüber dem verwendeten Tumormaterial, eine Feststellung, die als Voraussetzung für die Übertragbarkeit des Tumors von vornherein gegeben war.

Die während der Versuche aufgetretenen Veränderungen unter den Serumproteinen, nämlich die tiefgreifende Dysproteinämie und auch Hypoproteinämie, ist wohl in erster Linie Ausdruck des konsumierenden Tumorstadiums und somit Folge einer enormen eiweißanabolen Wirkung. Derartige Veränderungen sind sowohl aus der entsprechenden tierexperimentellen Pathologie, wie auch aus der Humanpathologie hinlänglich bekannt. Ein Sensibilisierungseffekt, der in einer stärkeren Vermehrung von β - und γ -Globulinen zutage treten würde, ist im vorliegenden Untersuchungsgut nicht wahrgenommen worden, so daß auch auf Grund der Serumproteinverschiebungen eine Antikörperbildung als unwahrscheinlich gilt.

Die Konsequenz der Ergebnisse soll in einer weiteren Mitteilung über Beobachtungen und Befunde an Ratten verschiedener Zuchtstämme unter Anwendung der selben Versuchsanordnung berichtet werden. In dieser Reihe wurden typische Isosensibilisierungseffekte erzielt, wie sie allenfalls noch unter Abänderung des Tumorproteins durch Einführung chemischer Substanzen möglich sind.

Die vorliegenden Studien sollen als Beitrag für die Entwicklung einer immunologisch wirksamen Therapie maligner Geschwülste dienen.

Z u s a m m e n f a s s u n g :

Artgleichen Ratten des Stammes Wistar - Hannover wurden YOSHIDA-Sarkome transplantiert. Dabei zeigte sich bei keinem der Tiere eine Antikörperbildung, da der Austausch von diesen Tumortransplantaten bei ein und demselben Tierstamm als Effekt im Sinne einer Inzuchtverpflanzung aufzufassen ist. Dies verdeutlichen der OUCHTERLONY-Präzipitationstest und die Hämagglutinationen nach BOYDEN.

Auch die Papierelektrophorese zeigte, daß die Dysproteinämie in erster Linie Ausdruck eines konsumierenden Prozesses war und nicht ein Sensibilisierungseffekt.

In der Diskussion wurden diese Befunde dahingehend beantwortet, daß bei wenig differenzierten Tieren innerhalb gleicher Familien nur unwesentliche Individualunterschiede bestehen und diese immunologisch zumindest inert sind.

In Konsequenz zu den Ergebnissen der vorliegenden Versuchssreihe ist nunmehr beabsichtigt, eine prinzipiell gleichartige Untersuchungsserie allerdings mit Ratten verschiedener Zuchtstämme vorzunehmen.

L i t t e r a t u r v e r z e i c h n i s :

1. BOYDEN, S.V.:

The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera.

J. Exper. Med. 93, 107 - 120, 1951

2. DENOIX, P.:

Mechanisms of Invasion in Cancer.

Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New-York 1967

3. GÖTZ, H.:

Antigenität von Tumorproteinen.

Habilitationsschrift, Erlangen 1967

4. GÖTZ, H., G. BERG und F. SCHEIFFARTH:

Methodische Grundlagen der Immunoelktrophorese.

Z. Immun. Forsch. 114, 72 (1957)

5. GRABAR, P.:

Études sur les proteines a l'aide de méthodes immuno-chimiques.

Bull. Soc. Chim. Biol. 36 : 65 (1954)

b) Die Anwendung immunchemischer Methoden bei der Untersuchung der Proteine, insbesondere der Serumproteine.

Dtsch. med. Wschr. 79 : 1916 (1954)

c) Untersuchung von Serumweißstoffen mit Hilfe immunchemischer Methoden.

Zbl. Bakter. 164 : 15 (1955)

6. GRABAR, P. und P. BURTIN:

a) Analyse immunoélectrophoretique. Application aux Liquides humains biologiques.

Masson et Cie, Paris 1960

b) Immunoelktrophoretische Analyse.

Elsevier, Amsterdamm 1964

7. GRABAR, P. und C. A. WILLIAMS:

a) Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophoretiques et immuno-chimiques d'un mélange de protéins:

- application au serum sanguin.
Biochim. biophys. Acta 10, 193 (1953)
- b) Méthode immunoélectrophorétique d'analyse de mélanges de substances antigeniques.
Biochim. biophys. Acta 17, 67 (1955)
8. GRASSMANN, W., K. HANNIG und KNEIDEL:
Über ein Verfahren zur elektrophoretischen Bestimmung der Serumproteine auf Filtrierpapier.
Dtsch. med. Wschr. 76, 333 (1951)
9. HENNING, N.:
Klinische Laboratoriumsdiagnostik. 3. Aufl.
Urban u. Schwarzenberg, München-Berlin 1966
10. LINDER, A.:
Statistische Methoden für Mediziner, Naturwissenschaftler und Ingenieure.
Birkhäuser-Verlag, Basel 1964
11. NADLER, S. und G. E. MOORE:
a) Immunologische Krebstherapie.
Dtsch. Ärzteblatt 3, (1966)
b) Surgical Forum 26, 229 (1965)
c) Ann. Surgery 164, 482 (1966)
12. OUCHTERLONY, Ö.:
a) Diffusion-in-gel methods for immunological analyses.
Progr. Allergy 5, 1-78 (1958) I Karger, New York-Basel
b) Gel-Diffusion techniques.
15. Colloquium d. Ges. für Physiol. Chem. in Mosbach/Baden.
13-35, 1965 Springer, Berlin-Heidelberg-New York
13. SCHEIDEGGER, J. J.:
Une microméthode d'immunoélectrophorèse.
Int. Arch. Allergy 7,
14. SCHEIFFARTH, F., G. BERG und H. GÖTZ:
Papieroelektrophorese in Klinik und Praxis.
Urban u. Schwarzenberg, München-Berlin 1962
15. SCHEIFFARTH, F., H. WARNATZ und H. GÖTZ: und M. ROHRWASSER:
Immunologische Studien am Walker-Carcinom und Yoshida-Sarkom.
Z. Krebsforsch. 70, 178 (1967)

Herrn Prof. Dr. F. Scheiffarth möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas und die Übernahme des Referats herzlich danken.

Ein besonderes Anliegen ist es mir, Frl. Dr. H. Götz, die mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand, meinen Dank auszusprechen.

L e b e n s l a u f

Am 17. August 1941 wurde ich als Sohn des Lungenfacharztes Dr. med. Leo Lehr und seiner Ehefrau Anneliese, geb. Broll, in Waldenburg in Schlesien geboren. Nach der Vertreibung im Jahre 1945 übersiedelten meine Eltern nach Nürnberg. Dort besuchte ich von 1947-1951 die Volksschule. Im Juli 1961 legte ich die Reifeprüfung am Melanchthon - Gymnasium in Nürnberg ab. Im Herbst 1961 begann ich das Medizinstudium an der Friedrich - Alexander - Universität Erlangen - Nürnberg und bestand dort im April 1964 das Physikum. Nach dem ersten klinischen Semester in Erlangen folgten zwei Auslandssemester an der Universität Graz. Nach drei weiteren Semestern in Erlangen schloß ich mit dem Staatsexamen an der Friedrich - Alexander - Universität Erlangen-Nürnberg am 18. Juli 1967 mein Medizinstudium ab.

Seit dem 1. September 1967 bin ich als Medizinalassistent im Pathologischen Institut der Städtischen Krankenanstalten Nürnberg (Vorstand Prof. Dr. med. G. Fließ) tätig.



**BUCH- UND FOTODRUCK
LUDWIG MÖLLER
ERLANGEN · FAHRSTR. 5**